INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO CEARÁ
IFCE *CAMPUS* ARACATI
CURSO LICENCIATURA EM QUÍMICA

BRUNA CARLA COSTA SILVA

ELABORAÇÃO DE BEBIDA ANÁLOGO À KOMBUCHA DE ACEROLA UTILIZANDO O SUBPRODUTO DA INDÚSTRIA DE SUCOS.

ARACATI
2024

BRUNA CARLA COSTA SILVA

ELABORAÇÃO DE BEBIDA ANÁLOGO À KOMBUCHA DE ACEROLA UTILIZANDO O SUBPRODUTO DA INDÚSTRIA DE SUCOS.

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado ao curso de Licenciatura em Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará – IFCE – *Campus* Aracati, como requisito parcial para obtenção do Título de Licenciado em Química.

Orientador: Prof. Me. Sérvio Quesado Júnior.
Coorientadora: Profa. Dra. Otília Mônica Alves Borges.

ARACATI
2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Instituto Federal do Ceará - IFCE
Sistema de Bibliotecas - SIBI
Ficha catalográfica elaborada pelo SIBI/IFCE, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

SILVA, BRUNA CARLA COSTA.
ELABORAÇÃO DE BEBIDA ANÁLOGO À KOMBUCHA DE ACEROLA UTILIZANDO O SUBPRODUTO DA INDÚSTRIA DE SUCOS. / BRUNA CARLA COSTA SILVA. - 2024.
58 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Instituto Federal do Ceará, Licenciatura em Química, Campus Aracati, 2024.
Orientação: Prof. Me. Sérvio Quesado Júnior .
Coorientação: Prof. Dr. Otília Mônica Alves Borges .

1. Kombucha. 2. Resíduo de acerola. 3. Atividade antioxidante. 4. Fenóis totais. I. Titulo.

CDD 540

BRUNA CARLA COSTA SILVA

ELABORAÇÃO DE BEBIDA ANÁLOGO À KOMBUCHA DE ACEROLA UTILIZANDO O SUBPRODUTO DA INDÚSTRIA DE SUCOS.

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado ao curso de Licenciatura em Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE) - *Campus* Aracati, como requisito parcial para obtenção do Título de Graduação. Área de concentração: Licenciatura em Química.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

_____

Prof. Me. Sérvio Quesado Júnior (Orientador)

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE) - *Campus* Aracati

_____

Prof(a). Dr(a). Otilia Mônica Alves Borges(Co-orientadora)

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE) - *Campus* Aracati

_____

Prof. Dr. Raimundo Rafael de Almeida

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE) - *Campus* Aracati

_____

Prof. Dr. Samuel Pedro Dantas Marques

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE) - *Campus* Aracati

À Deus.

Aos mestres.

Aos meus pais.

Ao meu filho(a).

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha profunda gratidão ao meu orientador e co-orientadora, Prof. Me. Sérvio Quesado e Prof(a) Dr. Otilia Borges pela orientação inestimável, dedicação e expertise ao longo deste trabalho. Seus conselhos e sugestões foram fundamentais para a conclusão desta pesquisa e os suportes foram cruciais em todas as etapas do processo.

Agradeço também a minha colega de turma Daniele Venceslau, pelas suas valiosas contribuições e colaborações durante o estudo. Agradeço pela disposição em compartilhar conhecimentos, pela parceria nas tarefas e pelo incentivo que me proporcionou em momentos de desafio. Sua contribuição foi valiosa e muito apreciada.

Agradeço ao meu esposo, pelo apoio incondicional e compreensão ao longo desta jornada acadêmica. Sua paciência e incentivo foram fundamentais para que eu pudesse dedicar o tempo e o esforço necessários para a realização deste trabalho.

Um agradecimento especial ao meu filho(a), por estar ao meu lado, sua presença iluminou meu caminho e me ajudou a encontrar forças para superar os obstáculos, foi a força que me impulsionou a conclusão deste trabalho. Este trabalho é dedicado a você, com todo o meu carinho e amor.

Finalmente, minha eterna gratidão à minha família, em especial aos meus pais, por seu encorajamento, paciência e apoio incondicional ao longo desta jornada acadêmica. Sem seu amor e suporte, este trabalho não teria sido possível.

“Não é possível construir um mundo melhor sem melhorar as pessoas. Cada um de nós deve trabalhar para melhorar-se a si próprio.”

(Marie Curie)

RESUMO

O resíduo de suco de acerola é um subproduto que acaba sendo descartado ou usado como ração animal, desperdiçando toneladas de resíduos da indústria de sucos que poderiam gerar produtos de maior valor agregado. Neste contexto, foi produzida uma bebida análoga ao kombucha de resíduos de acerola com chá verde e uma colônia de microrganismos (Scoby) que passou por uma primeira fermentação de nove dias, e uma segunda fermentação de três dias após adicionar o suco do resíduo de acerola. Durante a fermentação, foram retiradas alíquotas a cada 3 dias para medição de pH, graus brix, fenois totais, vitamina C e atividade antioxidante. Para verificar a qualidade do produto, foi usada a Instrução Normativa 41, com os resultados estando dentro do esperado, a exceção de o teor de álcool e ácidos voláteis, que ficaram em 0,7% (sendo considerado um kombucha do tipo alcoólico) 0,99889 g/cm^3 e $1.741,29\ mmol/L$ de ácidos voláteis, respectivamente. Recomenda-se que futuros trabalhos diminuam o tempo da primeira fermentação e reduzam o açúcar com o objetivo de diminuir o teor de álcool e ácidos voláteis formados.

Palavras-chave: Kombucha. Resíduo de acerola. Atividade antioxidante. Fenóis totais.

ABSTRACT

Acerola juice residue is a byproduct that ends up being discarded or used as animal feed, wasting tons of waste from the juice industry that could generate products with greater added value. In this context, a drink analogous to kombucha was produced from acerola residues with green tea and a colony of microorganisms (Scoby) that underwent a first fermentation of nine days, and a second fermentation of three days after adding the juice from the acerola residue. . During fermentation, aliquots were taken every 3 days to measure pH, brix degrees, total phenols, vitamin C and antioxidant activity. To check the quality of the product, Normative Instruction 41 was used, with the results being as expected, with the exception of the alcohol and volatile acid content, which remained at 0.7% (being considered an alcoholic type kombucha) 0 .99889 g/cm3 and 1,741.29 mmol/L of volatile acids, respectively. It is recommended that future work shorten the time of the first fermentation and reduce sugar with the aim of reducing the alcohol content and volatile acids formed.

Keywords: Kombucha. Acerola residue. Antioxidant activity. Total phenols.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01: Scoby com o starter, o liquido ativador.....24
Figura 02: Resíduo de acerola úmido e balança de cozinha..... 28
Figura 03: Chá verde……...28
Figura 04: peneira e jara para filtrar o chá..... 28
Figura 05: Scoby doado de uma produção caseira de Kombucha de Fortaleza..... 29
Figura 06: Filtração do chá verde com papel filtro..... 30
Figura 07: Recipiente de vidro com aproximadamente 2 Litros de volume..... 30
Figura 08: À esquerda o scoby e à direita o recipiente de vidro de boca larga com o chá, scoby e starter..... 31
Figura 09: Frasco de vidro pronto para a fermentação, devidamente armazenado.. 31
Figura 10: Passo a passo da produção do Kombucha..... 33
Figura 11: Amostragem da Kombucha ao longo das fermentações.....34
Figura 12: pHmetro de bancada modelo PHS-3E-BI da marca Satra.....35
Figura 13: Aluna realizando a titulação de Hidróxido de sódio para determinação de acidez volátil..... 38
Figura 14: Sistema de destilação por arraste de vapor utilizado..... 38
Figura 15: Sistema de destilação por arraste de vapor utilizado..... 44
Figura 16: Compostos fenólicos relacionados aos dias de fermentação..... 50
Figura 17: Atividade antioxidante pelo sequestro do radical ABTS e dias de fermentação.....51
Figura 19: Gráfico de representação do °Brix..... 53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Parâmetros analíticos do Kombucha.....35

Tabela 2: Densidade relativa em 20°C por volume.....39

Tabela 3. Valores de pH ao longo dos dias de fermentação relacionado à amostra..... 44

Tabela 4: Resultado da média, em triplicata, de graduação alcoólica em 20°C/20°C..... 46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABKOM	Associação Brasileira de Kombuchas
ABRIR	Associação brasileira das indústrias de refrigerantes e de bebidas não alcoólicas.
BRIX	Índice refratométrico determinante de açúcar
ABTS	3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico
CFT	Compostos fenólicos totais
D3,D6, D9 e D12	Bebida do tipo kombucha nos respectivos dias de fermentação, dia 3, dia 6, dia 9 e dia 12.
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
GL	Instrumento para determinar percentual de álcool- Gay Lussac
IN	Instrução Normativa
IFCE	Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
pH	Potencial Hidrogeniônico
SCOBY	Cultura simbiótica de bactérias e leveduras

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO..... 14
2. OBJETIVOS..... 17
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... 18
3.1 Caracterização do Kombucha..... 18
3.2 Chá Verde..... 19
3.3 Resíduo de acerola..... 19
3.4 Scoby..... 20
3.5 Propriedades Benéficas..... 21
3.6 Legislação acerca do Kombucha..... 23
4. MATERIAIS E MÉTODOS..... 25
4.1. Materiais..... 25
4.1.1 Resíduo de acerola..... 25
4.1.2 Chá Verde..... 25
4.1.3 Açúcar cristal..... 26
4.1.4. Scoby..... 26
4.2 Elaboração do Kombucha..... 27
4.2.1 Produção do chá..... 27
4.2.2 Primeira Fermentação..... 28
4.2.3 Produção do suco do resíduo de acerola..... 29
4.2.4 Segunda fermentação..... 30
4.2.5 Sistema de alíquotas do analito..... 31
4.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS..... 32
4.3.1 Padrão de qualidade e de identidade do kombucha..... 32
4.3.1.1 Medidas de pH..... 32
4.3.1.2 Acidez volátil..... 32
4.3.1.3 Graduação alcoólica..... 34
4.3.2 Compostos fenólicos totais..... 36
4.3.3 Atividade antioxidante in vitro pelo método ABTS..... 37
4.3.4 Vitamina C (L-ascórbico)..... 39
4.3.5 Determinação da concentração de açúcar..... 40
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 42
5.1 Medidas de pH..... 42
5.2 Acidez volátil..... 43
5.3 Graduação alcoólica..... 45
5.4 Compostos fenólicos totais..... 46
5.5 Atividade antioxidante pelo método ABTS..... 48
5.7 Determinação da concentração de açúcar..... 50
6 CONCLUSÃO/ CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 52

1 INTRODUÇÃO

O kombucha é uma bebida produzida a partir de chá que passa por uma ou duas fermentações. Segundo Chakravorty et al. (2016) esta bebida é originária da Ásia (Oriente Médio). A base para sua produção são chás adoçados que são adicionados a um scoby (Simbiótica de bactérias e leveduras) que as leveduras fazem a produção de invertases que atuam na hidrólise da sacarose em frutose e glicose, sendo esse efeito o desencadeamento de várias outras reações (May *et al*., 2019). Como também as bactérias acéticas se concentram no scoby da cultura inicial do kombucha e são responsáveis pela criação de novas camadas de celulose (Chakravorty et al., 2016; Dufresne; Farnworth, 2000).

Na segunda fermentação, pode ser misturada com sucos que faz parte da saborização da bebida e também pode contribuir para a adição de mais nutrientes para a bebida. Chakravorty et al. (2016) mencionam que a bebida apresenta propriedades interessantes para a saúde como por exemplo presença de antioxidantes, compostos fenólicos, vitaminas, baixo teor de açúcares, rica em probióticos.

A indústria de alimentos utiliza várias matérias primas para a elaboração da seus produtos, principalmente orgânicos, como várias frutas para a produção de diversas combinações e concentrações de sucos. Para Abir (2022) os néctares e sucos de frutas são produzidos pela indústria em grande escala, utilizando para a sua produção a parte comestível das frutas e vegetais. Request Rejected(2024) a empresa Britvic com filiais na cidade de Aracati-CE e Araguari-MG possui uma capacidade anual de produção de aproximadamente 200 milhões de litros de suco. Essa produção dá origem ao seu produto final, mas também ao subproduto em grande proporção, que são os resíduos da matéria utilizada, o qual passou por várias etapas até chegar no rendimento almejado.

O Ministério do Meio Ambiente afirma que se faz necessária a adoção de métodos adequados de gestão e tratamento destes grandes volumes de resíduos, para que a matéria orgânica presente seja estabilizada e possa cumprir seu papel natural de fertilizar os solos (Brasil, 2017). O descarte desses materiais deve ser pensado, principalmente, quando se trata de uma escala maior como na produção industrial. Para minimizar os problemas ambientais que podem acarretar. O chorume é um líquido produzido a partir da decomposição do material orgânico que, quando

exposto ao solo, penetra e polui lençol freático, mares e rios, além do mal cheiro, contamina o solo prejudicando a flora, isso porque possui em sua composição materiais tóxicos, explica Cristina (2020). De acordo com BRASIL (2022). Além disso, os resíduos também atraem outros insetos em busca de alimentos e de procriação. Foi estabelecida a norma reguladora de resíduos industriais.

De acordo com a Norma Regulamentadora número 25 de resíduos industriais (1978), as empresas devem desenvolver ações de controle que evitem riscos à segurança e à saúde.

Esse subproduto já deve ter um destino pré-definido principalmente por não ser apropriado o seu descarte impensado, evitando assim a poluição ambiental. Os principais destinos dados a estes subprodutos são: no processo de compostagem, ou na produção de ração animal, como alimento para grandes e pequenas criações (Costa, 2015). A fabricação de ração é destinada à alimentação animal, como bovinos, ovinos e caprinos, criados em cativeiro por produtores independentes, e também a utilização para uso como adubo orgânico de plantas. O subproduto pode ser reutilizado para diversas elaborações, não só diminuindo o descarte, mas também servindo de base para produzir alimentos.

Um possível uso para os resíduos orgânicos da indústria de suco seria a elaboração de Kombucha, pois reutiliza este subproduto industrial. Além de conseguir dar um fim produtivo para o resíduo, também pode trazer impacto econômico positivo para a indústria ou a população local com a sua formulação de maneira caseira gerando renda para as famílias de classe baixa. Ademais, a bebida contém substâncias que trazem benefícios para a saúde.

A proposta deste trabalho é elaborar e analisar uma bebida tipo Kombucha de acordo com os parâmetros exigidos pela legislação brasileira de produção de Kombucha na Instrução Normativa N° 41, comprovando se foi possível atingir êxito na formulação do Kombucha com subproduto da indústria de acerola.

Ademais, foram quantificadas algumas substâncias importantes para o nosso organismo que estão presentes na bebida, e que favorecem o bom funcionamento do organismo: os compostos fenólicos, atividade antioxidante e vitamina C. Também foi verificada a concentração alcoólica já que a bebida passa

por processo de fermentação, e registrado o pH da bebida, pois a fermentação produz ácido acético, sendo necessário ser quantificado.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Produzir uma bebida análoga ao Kombucha a partir de resíduos, da indústria de sucos, orgânicos de acerola, de acordo com os padrões estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento(Instrução Normativa N 41).

2.2 Objetivos específicos

- Quantificar os compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante;
- Quantificar o teor de vitamina C(L-ascórbico);
- Verificar os açúcares em Graus de Brix;
- Estimar a graduação alcoólica, a acidez volátil e o pH;
- Obter uma bebida do tipo kombucha.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Caracterização do Kombucha

O Kombucha teve origem no nordeste da China (Manchúria), onde foi valorizada durante a Dinastia Tsin (“Ling Chi”), cerca de 220 AC, pelas suas propriedades desintoxicantes e energizantes (Jayabalan, 2014). Ganhou popularidade no Ocidente devido aos seus efeitos terapêuticos, como antimicrobiano, antioxidante, anticancerígeno, antidiabético, tratamento de úlceras gástricas e colesterol alto. Também mostrou um impacto na resposta imune e na desintoxicação do fígado (Chakravorty et al., 2016).

É uma bebida feita a partir de uma Simbiótica, bactérias e leveduras que em uma comunidade se proliferam, que em chás adoçados fermentam, quando adicionados por algum tempo. Os chás mais utilizados para essa produção são o chá preto, chá verde e chá mate. Ferreira (2022) o chá verde (*Camellia sinensis*) é um dos mais utilizados. O chá verde possui altas quantidades de catequina, um fitonutriente com forte ação antioxidante. Foi descoberto que a catequina tem ótimas propriedades antibactericidas, principalmente contra a bactéria Streptococcus mutans.

Segundo Paludo (2017, p.12), ao chá adoçado é adicionado um volume de kombucha já pronta e um SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts), que serão responsáveis pelo processo de fermentação. A fermentação passa pelo período de duas etapas, a primeira é utilizado um chá adocicado com o scoby e uma pequena quantidade de starter(chá de uma fermentação anterior) o líquido favorece a proliferação de leveduras e bactérias que produzem uma celulose “filha” ao consumir o açúcar do chá. Já na segunda fermentação é utilizado o chá que passou pela fermentação misturado a um suco para saborização.

Jayabalan (2014) sempre que ocorre uma nova fermentação, um scoby se forma na parte superior do recipiente, sendo importante reservar uma parte para o próximo ciclo. Durante o processo de fermentação, o chá começa a exalar um cheiro fermentado e surgem bolhas de gás devido ao ácido carbônico gerado na reação

Nesse contexto, o Kombucha tem chamado a atenção de pesquisadores por suas características probióticas, que são suplementos alimentares microbianos

vivos. Segundo Moura (2019) ao final do procedimento, recomenda-se consumir o Kombucha refrigerada, podendo ser servida como um substituto do refrigerante devido ao seu alto grau de carbonatação.

3.2 Chá Verde

O chá verde é utilizado na elaboração de Kombuchas, por vários modos de preparo, a infusão é um dos métodos empregados para a produção, suas folhas emergidas em água fervente é capaz de resultar na extração de suas propriedades.

As propriedades mais presentes na composição do chá verde são os compostos fenólicos(CFT) que são substâncias com ação antioxidante. Chakravorty (2016) cada um contém principalmente cafeína e vários compostos polifenólicos, como epicatequina($C_{15}H_{14}O_6$), epicatequina galato($C_{22}H_{18}O_{11}$), epigalocatequina($C_{22}H_{18}O_{11}$), epigalocatequina galato($C_{22}H_{18}O_{11}$) e teaflavina($C_{29}H_{24}O_{12}$), que possuem atividade antioxidante reconhecida e são transferidos para o produto acabado da fermentação..

A ação antioxidante é uma espécie de defesa ao estresse oxidativo combatendo os radicais livres. Balentine (1997) estudos sugerem que essa ação antioxidante desempenha um papel crucial na prevenção de diversas doenças crônicas e degenerativas, como câncer, doenças cardiovasculares e diabetes mellitus. Ao reduzir os danos celulares e a inflamação, o chá verde pode ajudar a diminuir os riscos associados a essas condições de saúde.

Além disso, o chá verde contém dentre outras propriedades, que são as causas do seu consumo. Yanagimoto (2003) ela contém cafeína, pigmentos, carboidratos, aminoácidos, além de micronutrientes como as vitaminas B, E e C, e minerais como cálcio, magnésio, zinco, potássio e ferro.

3.3 Resíduo de acerola

A acerola (*Malpighia emarginata* D.C.), com o seu grande potencial como uma fonte natural de vitamina C e sua vasta utilidade na indústria, despertou o interesse dos produtores de frutas e adquiriu significativa importância econômica em diversas

regiões do Brasil. Sobrinho (2014 *apud* Kim *et al.*,2002) esta fruta tem grande potencial econômico e nutricional, devido, principalmente, ao seu alto conteúdo de vitamina C, que associada aos carotenoides e antocianinas presentes destacam este fruto no campo dos alimentos funcionais. Carlat (2012, p.11 *apud* Freitas 2006) o principal atrativo da acerola é o seu elevado teor de vitamina C, a fruta é também rica em outros nutrientes como carotenoides, precursores da vitamina A tiamina, riboflavina e niacina, ácido pantotênico, cálcio, ferro e magnésio.

Destaca-se também pela presença de antocianinas, tornando o produto interessante do ponto de vista de alimento funcional, uma vez que estes compostos capturam os radicais livres no organismo humano (Mesquita; Vigoa, 2000). Segundo Sobrinho (2014 *apud* Jerônimo *et al.*, 2011) o alto valor comercial das antocianinas e ácido ascórbico presentes nesse bagaço indica que esse resíduo poderia ter um melhor destino.

Estudos recentes têm demonstrado que as frutas são ricas em muitos nutrientes e compostos antioxidantes, e que esses constituintes se concentram majoritariamente nas cascas e sementes (Costa et al., 2000; Melo et al., 2008; Abrahão et al.,2010 apud Sousa, 2011).

Sousa et al., (2011) esses resíduos possuem em sua composição vitaminas, minerais, fibras e compostos antioxidantes importantes para as funções fisiológicas. Sobrinho (2014 *apud* Jerônimo *et al.*, 2011) indicam que a maior parte dos rejeitos gerados pelas indústrias é constituída basicamente de matéria orgânica, bastante rica em açúcares e fibras, tendo um alto valor nutricional agregado, podendo até ser consumido ou suplementado na alimentação humana.

3.4 Scoby

O Scoby também é conhecido como cogumelo, mãe ou colônia de bactérias, que é composto de uma pequena quantidade do chá anterior, que foi fermentado em uma produção passada, utilizado como ativador da fermentação(Figura 1), possui cheiro característico de vinagre.

Cintra E Kawashima (2018) se apresentar um odor semelhante ao de queijo, isso indica que o Scoby não está em boas condições para uso, tornando necessário o seu descarte. Onde esses microrganismos são capazes de se proliferar por meio do consumo de açúcar, transformando em álcool.

Durante a fermentação ocorre a produção do conhecido “scoby filho” que com uma nova fermentação fará parte do “scoby mãe”. Conforme Villarreal-Soto (2018) À medida que o tempo de fermentação avança, a espessura da membrana aumenta pela geração de novas camadas em sua superfície.

Figura 1: Scoby com o starter, o líquido ativador.

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

A simbiotica é composta de acordo com Jayabalan et al., (2014) os procariotos mais abundantes no SCOBY são as bactérias do gênero Acetobacter e Gluconobacter. A principal bactéria responsável por criar a rede celulósica flutuante na superfície do líquido é Acetobacter xylinum.

3.5 Propriedades Benéficas

Propriedades benéficas do Kombucha estão presentes mesmo com a sua produção caseira. A composição química do Kombucha é variável quantitativa e qualitativamente. Depende de vários fatores, como tempo de fermentação, substratos utilizados no chá inicial e microrganismos presentes no inóculo. Conforme Jayabalan *et al.* (2014, *apud* Morais *et al*, 2022) apontam que o kombucha reduz problemas durante o ciclo menstrual, reduz complicações causadas por álcool, desintoxica o sangue e estimula a produção de interferon, que são mediadores importantes de respostas imunológicas.

No entanto, alguns componentes, como ácidos orgânicos, vitaminas, polifenóis e aminoácidos, estão comprovadamente presentes na maioria (Fu et al., 2014 *apud* MACEDO *et al*,2020). Através do processo de fermentação o chá torna-se uma excelente fonte de antioxidantes, enzimas, vitaminas do complexo B e ácidos orgânicos comprovadamente benéficos à saúde. Trata-se de uma bebida probiótica com significativa ação principalmente na saúde intestinal (Dufresne & Farnworth, 2000; Malbasa Et Al., 2008; Batikh Et Al., 2012; Kumar & Joshi, 2016; *Apud* Pinto, 2018).

A atividade antioxidante do kombucha está relacionada à presença de polifenóis e catequinas($C_{15}H_{14}O_6$). A concentração de compostos fenólicos e a atividade de reação para eliminar o radical livre “2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) aumentam ao longo do tempo de fermentação (Schroeder, 2019). Segundo Ferreira (2022,) os antioxidantes atuam na diminuição dos radicais livres, que causam o estresse oxidativo nas células. O acúmulo desses radicais livres tem como consequência muitas doenças como: Parkinson, Alzheimer, envelhecimento e até mesmo obesidade.

Estudos do Kombucha comprovaram suas propriedades antibacterianas, antioxidantes, anti diabéticas, bem como sua capacidade de reduzir a concentração de colesterol, apoiar o sistema imunológico e estimular a desintoxicação do fígado. (Villarreal Soto, 2018).

As principais vitaminas que compõem a bebida são do complexo B. Em maior concentração são encontradas a Tiamina (B1), Riboflavina (B2), Piridoxina (B6) e Cobalamina (B12), que atuam como coenzimas nas reações metabólicas colaborando na produção de energia (Rubert et al., 2017). Além destas, também está presente a vitamina C, cuja influência em processos antioxidantes e antiinflamatórios beneficia o organismo (Maia 2020 *Apud* Cavalari; Sanches, 2018).

Jayabalan et al.,(2014) o controle de pH é importante, pois, é ele que mostra a conversão de glicose em ácido glicurônico e frutose em ácido acético. Ayed; Abid; Hamdi,(2017) a presença do ácido glucurônico na kombucha proporciona benefícios à saúde, auxiliando na eliminação de impurezas e toxinas prejudiciais à saúde. A conjugação do ácido glucurônico com compostos indesejáveis aumenta a sua solubilidade e facilita seu transporte e eliminação do corpo.

Enquanto, o ácido glicurônico é importante para saúde presente na kombucha e é o resultado de um processo microbiológico de oxidação da glicose Jayabalan et

al.,(2014). O substrato utilizado pelos micro-organismos é a sacarose. Provou-se que a simbiose de bactérias e leveduras é responsável pela hidrólise enzimática extracelular de sacarose em glicose e frutose, seguida da transformação de glicose e frutose em etanol e CO2 pelas leveduras, enquanto as bactérias convertem a glicose em ácido glicônico e frutose em ácido acético como consequência das reações da cadeia metabólica (Reiss, 1994 apud Morais et al 2022, p.8).

Nesta etapa de fermentação os açúcares residuais se transformam em gás carbônico, ácido lático e etanol. Tem prazo de validade de até 15 dias mantido em refrigeração. (CARVALHAES, 2020 *apud* VELASQUE, 2022, p.24).

A bebida também fortalece o sistema imunológico, agindo como uma bebida probiótica, equilibrando a microbiota gastrointestinal humana. (Jayabalan et al., 2014). Watatawana *et al.* (2015) comenta que a atividade antimicrobiana e antifúngica do kombucha é atribuída ao pH ácido da bebida, devido à presença, por exemplo, de ácidos orgânicos, e principalmente do ácido acético e das catequinas, que inibem o crescimento de uma série de microrganismos Gram positivos e Gram negativos, como *Helicobacter pylori*, causador de úlceras pépticas, e *Escherichia coli,* causador da diarreia comum.

3.6 Legislação acerca do Kombucha

A Associação brasileira de Kombucha (ABKOM) fundada em 2018 é uma associação sem fins lucrativos com a contribuição de alguns produtores da bebida que sem formas de manejo trocavam informações de como elaborar e melhorar a produção do Kombucha, até então ser estabelecida a Instrução Normativa nº 41(N 41).

ABKOM (2018) desde a fundação, os membros e diretores atuaram ativamente no primeiro grande objetivo: incluir o kombucha na legislação brasileira junto aos órgãos competentes. Esta ação aconteceu de forma exaustiva e resultou na Instrução Normativa N 41, publicada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que estabelece os padrões de identidade e qualidade para produção comercial da categoria.

A IN 41 de 17 de setembro de 2019, em seu artigo 1° estabelece o padrão de identidade e qualidade válido em todo o país para as bebidas que serão destinadas

ao consumo humano. Levando em consideração os parâmetros analíticos da legislação(Tabela 1).

Tabela 1: Parâmetros analíticos do Kombucha.

Parâmetro	**Mínimo**	**Máximo**
pH	2,5	4,2
Graduação alcoólica (% v/v) kombucha sem álcool	-	0,5
Graduação alcoólica (% v/v) kombucha com álcool	0,6	8,0
Acidez volátil (mEq/L)	30	130
Pressão(Atm a 20°c) na kombucha adicionada de CO_2	1,1	3,9

Fonte: Instrução Normativa N 41.

O grande público ainda não conhece a Kombucha e todos os seus benefícios. Segundo a ABKOM (2019) para o mercado produtor, a IN 41 foi uma grande conquista, mas ainda há muitas dúvidas e inseguranças com relação à produção consciente e a segurança alimentar.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Materiais

4.1.1 Resíduo de acerola

Os resíduos de acerola (Figura 2) são bagaços da fruta e seu caroço que passaram pelo processo de trituração, utilizados para o preparo do Kombucha, foram fornecidos pela empresa Britvic EBBA (Aracati, Ce). Esta empresa produz alimentos e bebidas de frutas, sendo que a acerola é uma das mais utilizadas na produção. No processo de produção de sucos, as acerolas passam por várias etapas de processamentos como a seleção, lavagem e prensagem das frutas, que é originado um tipo de bagaço úmido de frutas rico em propriedades, a qual foi utilizado para a produção da kombucha.

Figura 2: Resíduo de acerola úmido e balança de cozinha

Fonte: Elaborada pela autora (2022)

4.1.2 Chá Verde

O chá verde (*Camellia sinenses*) de marca Natury´s de 10 g de folhas secas e desidratadas por embalagem foi obtido em comércio local da cidade de Aracati. Foi utilizado por infusão(4.2.1) de folhas desidratadas do chá, conforme ilustra a Figuras 3 e 4.

Figura 3: Chá verde.

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Figura 4: peneira e jara para filtrar o chá

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

4.1.3 Açúcar cristal

A fonte de carboidrato para consumo do Scoby foi o açúcar cristal adquirido no comércio local da cidade de Aracati .

4.1.4.Scoby

O Scoby (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts) para a produção de Kombuchas foi fornecido como doação de um produtor caseiro da localidade de Fortaleza(Figura 5).

Figura 5: Scoby doado de uma produção caseira de Kombucha de Fortaleza

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

4.2 Elaboração do Kombucha

A preparação do chá, suco do resíduo e fermentações foram feitas no Laboratório de Alimentos e Bebidas do IFCE (Instituto Federal de Ciência e Tecnologia do Ceará) *Campus* Aracati. As análises químicas foram realizadas no Laboratório de Química do IFCE *Campus* Aracati.

4.2.1 Produção do chá

Em uma panela grande, de aproximadamente 5L, de material inox, foram aquecidos 2L de água mineral até atingir a ebulição(fervura). Após o aquecimento, desliga-se a chama de aquecimento, e foram adicionados 10 g de chá verde (um pacote) e 56 g de açúcar cristal e deixados em descanso por alguns minutos até esfriar à temperatura ambiente.

Após esfriado, foram removidos os resíduos das folhas através de filtração, primeiramente com uma peneira (L 18cm x A 4cm x C 18 cm) e depois em papel filtro número 102 (C 17cm x A 12cm x F 5,5cm) para remoção dos resíduos mais finos, obtendo-se o chá filtrado(Figura 6).

Figura 6: Filtração do chá verde com papel filtro.

Fonte: Elaborada pela autora (2022)

4.2.2 Primeira Fermentação

Em um recipiente de material vidro (Figura 7) com volume de 2 L e boca larga, higienizado com 1 colher de sopa de água sanitária para 1 L de água, deixando agir por 15 min, logo em seguida descartou o líquido e lavou com água em abundância.

Figura 7: Recipiente de vidro com aproximadamente 2 Litros de volume.

Fonte: Elaborada pela autora (2022)

No recipiente depositou-se 1.833g de chá fresco com 167g de starter(chá de uma fermentação anterior) e 48g de Scoby, cobrindo com um tecido lavado, passado ferro de engomar e pondo um elástico em volta(Figura 8).

Figura 8: À esquerda o scoby e à direita o recipiente de vidro de boca larga com o chá, scoby e starter.

Fonte: Elaborada pela autora (2022).

Armazenou-se a temperatura ambiente em local fresco e com pouca luz por nove dias(Figura 9).

Figura 9: Frasco de vidro pronto para a fermentação, devidamente armazenado.

Fonte: Elaborada pela autora (2022)

Três alíquotas de 10 mL foram retiradas nos dias 3, 6, 9 e 12, sendo denominadas de D3, D6, D9 e D12 respectivamente, e armazenadas em tubos falcons de plástico de 15 ml, as quais foram congeladas até o dia das análises.

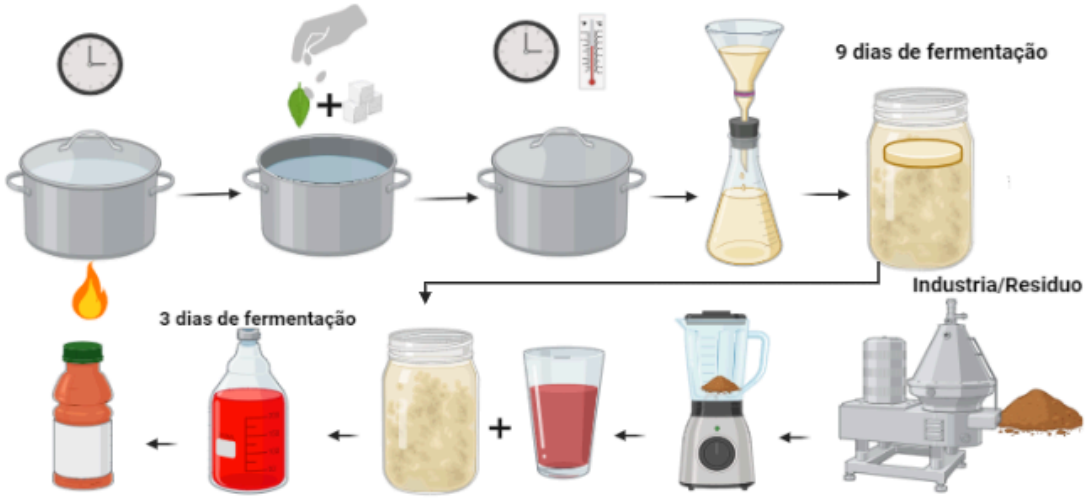
4.2.3 Produção do suco do resíduo de acerola

Para a elaboração do suco que compõem parte da segunda fermentação, pesou-se 70 g do resíduo úmido de acerola, e depositou em um liquidificador para ser triturado com 200 mL de água mineral, sendo misturado com 14 g de açúcar cristal. Este líquido foi peneirado e filtrado em papel de filtro número 102 para retirar resíduo sólido no suco.

4.2.4 Segunda fermentação

Para a segunda fermentação, retirou-se e pesou-se o Scoby, e 200 ml do chá anterior, os quais foram colocados em outro recipiente de vidro previamente limpo para uma outra fermentação ou para ser mantido em condições mínimas de sobrevivência do scoby até que seja necessária outra fermentação. Nesse protocolo, o Scoby não entra em contato com o suco(Figura 10).

Figura 10: Passo a passo da produção do Kombucha.



Fonte: BioRender(2024)

Para cada um litro de chá da primeira fermentação foram misturados 100 mL de suco de resíduo (conforme 4.2.3), A partir desta mistura, foram enchidas duas garrafas de vidro de um litro e tampadas. Na segunda fermentação não deve ocorrer troca de gases entre o Kombucha e o meio, por isso foram tampadas. Sem troca de gases ocorre a formação de álcool que é o objetivo da segunda fermentação, já se houver entrada de oxigênio ocorre a formação de ácido acético, que altera as propriedades do Kombucha.

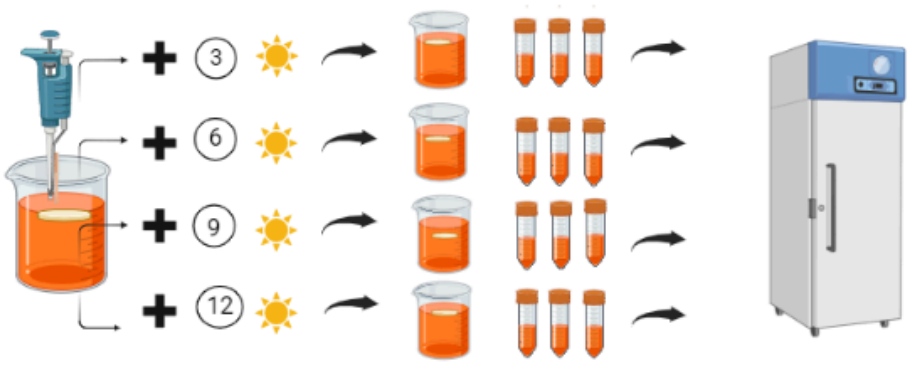
A segunda fermentação ocorreu por três dias em temperatura ambiente em local ao abrigo de luz, sendo armazenada em geladeira após os três dias. Foram coletadas três amostras de 10 mL em tubos Falcons de plástico ao término dos três dias, sendo denominadas de D12 (décimo segundo dia de fermentação

considerando a primeira e segunda fermentação) e congeladas até o dia da análise. Um resumo das etapas da produção do Kombucha é mostrado na Figura 10.

4.2.5 Sistema de alíquotas do analito

A subtração de amostras foi realizadas a cada 3 dias, com uma pipeta Automática, retirada 3 amostras de 10 ml que foram armazenados em tubos Falcon e congelados até a sua utilização. Sendo então utilizados para referência dia 3, dia 6, dia 9 e dia 12, denominados D3, D6, D9 e D12, respectivamente, que foram os dias subsequentes de fermentação/dias de amostragem (Figura 11). Os dias de D3 a D9 foram da primeira fermentação, e o dia D12 foi o final da segunda fermentação, conforme esquema na Figura 11. As amostragens foram usadas para as metodologias de: Atividade Antioxidantes, Compostos Fenólicos, e Vitamina C.

Figura 11: Amostragem da Kombucha ao longo das fermentações.



Fonte: BioRender (2024).

4.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

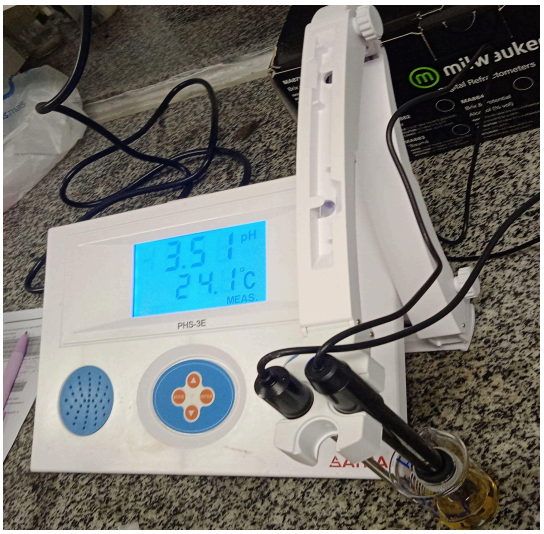
4.3.1 Padrão de qualidade e de identidade do kombucha

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) estabelece o padrão de qualidade e de identidade do Kombucha, em todo território nacional, através da IN 41 de 17 de setembro de 2019 (BRASIL, 2019). Para a produção do Kombucha há padrões de qualidade que determinam o seu consumo seguro, a IN 41 estabelece parâmetros analíticos exigidos para produção.

4.3.1.1 Medidas de pH

Os níveis de acidez (pH) foram analisados usando um medidor de pH de bancada, modelo PHS-3E-BI da marca Satra, um pHmetro de Bancada com Calibração Automática de pH e Temperatura (Figura 12). Para garantir precisão, o equipamento foi ajustado com soluções de pH 6,0 e 4,0, seguindo as orientações do fabricante, sendo lavado com água destilada em seguida de cada aferição de pH.

Figura 12: pHmetro de bancada modelo PHS-3E-BI da marca Satra.



Fonte: Elaborada pela autora (2024).

4.3.1.2 Acidez volátil

Utilizado como base para esse método o livro Métodos físico-químicos para análises de alimentos, o protocolo expresso em Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (2008).

Este método é fundamentado na titulação de neutralização dos ácidos utilizando uma solução padronizada de álcali, com o auxílio de indicador

fenolftaleína ou por meio de um pHmetro até atingir o ponto de equivalência. A acidez total é então expressa em gramas de ácido acético por 100 mL de amostra.

O cálculo da acidez volátil é feito por diferença entre a acidez total e a acidez fixa. O resultado é expresso em g de ácido acético por 100 mL de amostra, sendo determinado neste método em acidez total por acidez fixa (Instituto Adolfo Lutz, p.349 2008).

Utilizou-se 100 mL da amostra para um frasco Erlenmeyer de 500 mL. Adicionou-se 0,5 mL do indicador fenolftaleína. Em seguida, titulou com solução de hidróxido de sódio 0,1 M padronizada (Figura 13) até a coloração rósea aparecer até alcançar o ponto de viragem entre pH 8,2 e 8,4, utilizando um pHmetro.

Foram utilizados para obter o resultado os fatores:

n = volume gasto na titulação da solução de hidróxido de sódio, em mL

M = molaridade da solução de hidróxido de sódio

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio

PM = peso molecular do ácido acético (60g)

V = volume tomado da amostra, em mL

$$\frac{n\ x\ M\ x\ f\ x\ PM}{(10\ x\ V)} = \acute{A}cidos\ totais,\ por\ g\ de\ \acute{a}cidos\ ac\acute{e}ticos\ por\ 100mL\ de\ amostra$$

Já a acidez fixa é obtida por evaporação da amostra seguida de uma titulação dos ácidos residuais com álcali. Pipetou-se 50 mL da amostra para uma cápsula de porcelana e colocou para evaporar em banho-maria. Adicionando água cuidadosamente pelas paredes da cápsula, repetindo quando necessário, lavando o resíduo e continuando a evaporação até quase total secura. Transferiu esse resíduo para um frasco Erlenmeyer e adicionou 100 mL de água. Logo em seguida, titulou com solução de hidróxido de sódio de 0,1 M (Figura 13), seguindo o procedimento descrito na determinação de acidez total descrito acima.

$$\frac{n\ x\ M\ x\ f\ x\ PM}{(10\ x\ V)} = \acute{A}cidos\ fixos,\ por\ g\ de\ \acute{a}cidos\ ac\acute{e}ticos\ por\ 100mL\ de\ amostra$$

Fatores utilizados:

n = volume gasto na titulação da solução de hidróxido de sódio, em mL

M = molaridade da solução de hidróxido de sódio

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio

PM = peso molecular do ácido acético (60g)

V = volume tomado da amostra, em mL

O valor de ácidos voláteis é obtido pela diferença entre ácidos totais e ácidos fixos, conforme fórmula a seguir:

$$At - Af = Ácidos\ voláteis$$

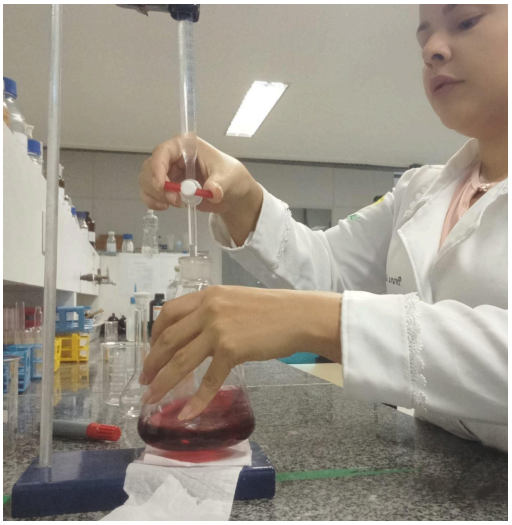
Em seguida, foi calculada a acidez volátil conforme a fórmula a seguir:

$$\frac{(AV\ x\ 100)}{G} = Ácidos\ voláteis,\ em\ g\ de\ ácido\ acético\ por\ 100\ mL\ de\ amostra$$

Av = ácidos voláteis

G = graduação alcoólica

Figura 13: Aluna realizando a titulação de Hidróxido de sódio para determinação de acidez volátil.



Fonte: Elaborada pela autora (2024).

4.3.1.3 Graduação alcoólica

Foi usado como referência o livro Métodos físico-químicos para análise de alimentos, pela autoria do Instituto Adolfo Lutz (2008). O método conhecido como

graduação alcoólica real é usado para determinar a porcentagem de álcool em volume a 20°C em bebidas alcoólicas.

Em 20°C, um balão volumétrico contendo 100 mL da amostra, após ajustar a temperatura levou-se a amostra para um balão de destilação, utilizando o processo de destilação por arraste de vapor, (Figura 14) lavou-se o balão com água destilada que continha a amostra por quatro vezes e depositou-se essa água lavada no frasco de destilação. Adicionou-se bolas de segurança dentro do frasco, conectou o frasco de destilação ao condensador e iniciou-se o processo de destilação que foi colhido o destilado em um balão de fundo chato de 100 mL.

Figura 14: Sistema de destilação por arraste de vapor utilizado.

Fonte: Elaborada pela autora (2023)

No mesmo balão volumétrico(de 100 mL) que foi utilizado para medir a 100 mL de amostra foi adicionado 10 mL de água destilada que foi imersa em banho de água e gelo até atingir 20°C. No balão de fundo chato foi colhido o destilado de ¾ do volume inicial e levou esse destilado para o balão com 10 mL de água destilada imersa em banho de água e gelo. Acrescentou-se no balão volumétrico de 100 mL o destilado e completou-se com água destilada a 20°C até quase completar o volume, ajustou-se a temperatura a 20°C e completou-se o volume para 100 mL a 20°C e agitou-se.

Em seguida, determinou-se a densidade relativa do destilado a 20°C utilizando-se o picnômetro, em triplicata. Para tanto, pesou-se o picnômetro vazio, logo em seguida, o picnômetro com água destilada a 20°C e, por fim, o picnômetro com a amostra a 20°C, utilizando banho de gelo para equilibrar a temperatura. Foi utilizada a equação abaixo para se obter a densidade relativa da amostra.

$$\frac{m(am) - m(p)}{m(H_2O - m(p))} = densidade\ relativa\ em\ 20°c\ \therefore\ 20°c$$

m (am) = massa do picnômetro com a amostra

m (p) = massa do picnômetro vazio

m (H_2O) = massa do picnômetro com a água

A porcentagem em volume é expressa utilizando uma tabela de conversão (Tabela 2) que aponta a densidade relativa a 20°C/20°C, que é determinada no destilado alcoólico da amostra sendo fornecido como base para comparação dos resultados expressos na metodologia de grau alcoólico real em Métodos físico-químicos para análise de alimentos do Instituto Adolfo Lutz (2008).

Tabela 2: Porcentagem de álcool correspondente a densidade relativa em 20°C por volume

D 20°C/20°C	% v/v
1,00000	0,0
0,99985	0,1
0,99970	0,2
0,99955	0,3
0,99939	0,4
0,99924	0,5
0,99910	0,6
0,99895	0,7
0,99880	0,8
0,99866	0,9

Fonte: Instituto Adolfo Lutz (2008).

4.3.2 Compostos fenólicos totais

Devido à sua sensibilidade e capacidade de quantificar uma variedade de compostos fenólicos, o ensaio Folin-Ciocalteu marca do reagente é apropriado para analisar misturas fenólicas complexas presentes em frutas, vegetais e outros alimentos. O reagente oxidante interage com agentes redutores (antioxidantes), resultando na formação de um complexo solúvel de cor azul intensa.

O método utilizado por Singleton *et al. (*1999), foi reproduzido para se quantificar os polifenóis por meio do espectrofotômetro usando o reagente

Folin-Ciocalteau (FC) que implica na oxidação de fenóis em meio alcalino. A quantificação é dada pela quantidade de fenóis que são absorvidos e pelo pH que é ajustado pelo carbonato de sódio.

Foi preparada uma solução de carbonato de sódio, que para isso, foi dissolvido 50 g de carbonato de sódio anidro em 200 mL de água quente, após esfriar, adicionou-se alguns cristais e foi deixada para descansar por 24 horas à temperatura ambiente. Para a solução de ácido gálico, dissolveu-se 0,5 g de ácido gálico em 10 mL de EtOH e depois diluiu-se a 100 mL com água destilada em um balão volumétrico (concentração final 5 g/L) podendo ser armazenada em geladeira.

Para a curva de calibração usou-se 1, 2, 3, 5, e 10 mL de solução de ácido gálico em frascos de 100 mL que foram completados com água destilada, para então produzir soluções de concentrações 50, 100, 150, 250 e 500 mg/L de ácido gálico.

Amostra de kombucha utilizada foi diluída de (1:20). Foram utilizados microtubos de 2 mL para o procedimento abaixo e foram realizadas em triplicata.

Foram adicionados 20 µL das amostras dos extratos de acerola (previamente diluídas, quando necessário) em 1580 µL de água destilada e 100 µL de reagente Folin-Ciocalteu em microtubos de 2 mL. Após 8 min de reação, 300 µL de solução de carbonato de sódio 20 % (m/v) foram adicionados ao meio reacional e os microtubos foram agitados por 10 segundos em um agitador vortex. Após incubação a 40 ºC por 30 min, a absorbância das amostras foi lida a 765 nm em espectrofotômetro de marca Biospecto Modelo SP 220, Brasil, . e analisou-se os dados usando uma curva de calibração de ácido gálico, sendo as unidades expressas em mg de ácido gálico/L.

O conteúdo de composto fenólicos foi calculado em relação à curva de ácido gálico (Abs= 0,021*X + 38,522), R^2 = 0,998, onde Abs é Absorbância; X é a concentração de ácido ascórbico expressa em mg de equivalentes de ácido gálico por L de kombucha (mg GAE/L).

4.3.3 Atividade antioxidante *in vitro* pelo método ABTS

Uma das técnicas amplamente empregadas para avaliar a capacidade antioxidante é a utilização do radical ABTS, que pode ser gerado por meio de

reações químicas, eletroquímicas ou enzimáticas. Essa abordagem permite a medição da atividade antioxidante de compostos tanto hidrofílicos quanto lipofílicos.

Esse método foi empregado por Re *et al*. (1999), que foram base para a reprodução do método, que consiste na neutralização do radical ABTS ocorre pela reação de oxidação entre o sal de persulfato de potássio (K_2SO_5) e a solução aquosa de 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS). Assim, a atividade antioxidante dos extratos e fases é avaliada pelo decréscimo na intensidade da coloração da solução do radical ABTS+, medida através de espectrometria na faixa de comprimento de onda de 734 nm.

Para a solução estoque de ABTS 7 mM (solução 1), diluiu-se 0,192 g do radical em 50 mL de água destilada em um balão volumétrico, logo após armazenar em frasco de vidro âmbar. Para a solução de persulfato de potássio 140 m (solução 2) foram dissolvidos 0,3784 g de persulfato de potássio em balão volumétrico de 10mL em água destilada, que também foi armazenado em vidro âmbar. O radical ABTS+ (solução 3) foi produzido a partir de 5 mL da solução estoque de ABTS (solução 1) com 88 mL da solução de persulfato de potássio (solução 2) e solubilizou as soluções, conservando por 16 horas em ambiente escuro em temperatura ambiente. Antes do uso, a medida da absorbância deve ser de 0,70 da mistura a 734 nm.

A solução padrão de Trolox (2 mM) (solução 4), foi pesado 0,025 g de trolox e dissolvido em pequena quantidade de Etanol 99,9% foi transferido para o balão de 50 mL até completar em balão, que também foi armazenado em vidro âmbar.

Foi diluído 1 mL do radical ABTS (solução 3) em Etanol 99,9% até obter uma absorbância de 0,70 a 734 nm no espectrofotômetro de marca Biospecto Modelo SP 220, Brasil,(solução 5). A partir da solução de padrão de trolox, foram preparados em microtubos volumétricos de 2 mL, soluções de concentrações (Trolox + Álcool etílico) variando de 100, 500, 1000, 1.500 e 2.000 (uM). Para o padrão de curva foram utilizadas uma alíquota de 20 (uL) das concentrações de Trolox de 100, 500, 1000, 1.500 e 2.000 (uM) em tubos de ensaio solubilizou com 1.800uL da solução do radical ABTS. Logo após realizou-se a leitura de 734 nm no espectrofotômetro após 6 minutos e utilizou álcool etílico como branco.

Foram utilizadas amostras diluídas na proporção de (1:10), em ambiente escuro, transferiu uma alíquota de 0,02 mL/ou 20 µL e adição de 1.600 µl do radical ABTS. Realizou a leitura em 734 nm no espectrofotômetro após 6 min da mistura e

utilizou o álcool etílico como branco. Foi realizado em triplicata para cada dia, correspondente aos dias 3, 6, 9 e dia 12 a determinação da atividade antioxidante total.

A atividade antioxidante pelo método ABTS foi calculada em relação à curva de Trolox (AA% = 0,021*T + 38,522), R^2 = 0,999, onde AA é a atividade antioxidade T é a concentração de Trolox) e expressa em mmols de equivalentes de Trolox por L de kombucha (mmolTE/L).

A porcentagem de redução da inibição radical foi calculada de acordo com a equação.

$ABTS\ AA\%$=[1-(Abs Amostra)/(Abs controle)]*100

4.3.4 Vitamina C (L-ascórbico)

Determina a quantidade de vitamina C em soluções líquidas utilizando oxalato de sódio como estabilizador do ácido ascórbico (vitamina C) presente em amostras de sucos ou extratos de frutas tropicais. Em soluções aquosas, o ácido ascórbico (vitamina C) é altamente suscetível à instabilidade e pode rapidamente se transformar em ácido desidroascórbico. No entanto, essa conversão é reversível e pode ser evitada pelo uso de um agente estabilizador na solução (Selimovic *et al* (2011).

Portanto, o papel do oxalato de sódio nessa metodologia é impedir a reação de oxidação do ácido ascórbico, permitindo sua quantificação completa em solução aquosa sob luz UV. O método utilizado para esta determinação teve como base Selimovic *et al* (2011).

Foi preparada uma solução tampão pH 5,4 do ácido oxálico($C_2H_2O_4$), para tanto, pesou 0,120 g de Fosfato De Sódio Dibásico Anidro(Na_2HPO_4) e 2,04 g de Dihidrogeno-fosfato de potássio(KH_2PO_4) e diluiu-se em 500 ml de água destilada. Logo após, pesou-se 0,375 g de oxalato de sódio($Na_2C_2O_4$) e adicionou-se em 500 mL de solução tampão preparada anteriormente para formar uma solução de 0,005 M de oxalato de sódio. Pesou-se 0,05 g de ácido ascórbico($C_6H_8O_6$) e dissolveu-se em 250 mL da solução de ácido oxálico 0,005 M (200 mg/L) preparada na etapa anterior transferindo para um balão volumétrico.

Para a curva de calibração do ácido ascórbico, utilizaram-se micro-tubos de 2 mL em uma grade já identificados, após homogeneização, os tubos foram lidos em

espectrofotômetro de marca Biospecto Modelo SP 220, Brasil, a 266 nm . Para as amostras de kombucha foram feitas diluições de 1:20, em seguida realizou-se uma mistura 200 µL de amostra com 1,5 mL da solução de oxalato de sódio 0,005 M, deixando descansar a mistura em temperatura ambiente para extração da vitamina C durante 5 minutos, logo após de cubetas de quartzo de 10 mm de comprimento óptico foi realizado a leitura em espectrofotômetro ajustado para 266 nm.

Para calcular a Vitamina C utilizou o oxalato de sódio para estabilizar a oxidação do L-ácido ascórbico, que é a forma reduzida da vitamina C, para quantificar por meio de luz UV, espectrofotômetro, foi calculada em relação a curva de ácido ascórbico (Abs = 0,0092 * [ácido ascórbico] - 0,0034; R^2=0,9988) é expressa em mg/L de ácido ascórbico por L. Os resultados da curva padrão fornecida foram expressos em mg de ácido ascórbico/L e os resultados do kombucha foram expressos em mg de ácido ascórbico por litro de kombucha de resíduo de acerola (mg/L).

4.3.5 Determinação da concentração de açúcar

Utilizou-se o Refratômetro Digital Portátil modelo MA871 (Figura 15), da marca Milwaukee, que mede de 0 a 85% de Brix , é uma ferramenta rápida e simples para determinar a concentração de açúcares em soluções aquosas. Para medir a concentração de sólidos solúveis em solução aquosa, associada à quantidade de sacarose dissolvida em uma solução. Esse método é particularmente útil na indústria alimentícia para medir o teor de açúcar em sucos, refrigerantes, bebidas alcoólicas, entre outros produtos.

Figura 15: Refratômetro Digital portátil .

Fonte: Elaborada pela autora (2024).

Ao ligar o refratômetro prosseguiu-se com a calibração do aparelho conforme a instrução do fabricante, logo em seguida adicionou-se com uma pipeta de pasteur pingou-se três gotas da amostra de kombucha pura, ao pressionar o botão Read do visor o aparelho ler o índice de refração e apresenta em porcentagem de Brix, após a leitura pingou-se algumas gotas de água destilada e seguiu-se com nova leitura de amostras.

As amostras foram medidas de acordo com os dias crescentes de fermentação D3, D6, D9 e D12, conforme a quantidade de amostras que cada dia foram retiradas, que corresponde a três amostras por cada dia.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises produzidas das amostras de kombuchas elaboradas com resíduos de acerola foram examinados para comparar a progressão ao longo do processo de produção e se enquadram dentro dos parâmetros analíticos de qualidade e identidade do kombucha estabelecidos pela Instrução normativa 41, publicada pelo Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento(MAPA).

Consequentemente, os resultados foram colhidos e relacionados com os dados obtidos nas análises de atividade antioxidante, compostos fenólicos totais, quantificação de açúcares em graus Brix e vitamina C com os tempos de fermentação, nos dias D3, D6, D9 e D12. As análises de padrão de qualidade e identidade que são exigidas pela IN 41 foram realizadas apenas ao final da produção, ou seja , apenas no D12 que foi o último dia de fermentação.

5.1 Medidas de pH

Os valores obtidos de pH são expostos na Tabela 3, na qual se observa a diminuição do kombucha de resíduos de acerola ao passar dos dias. O mesmo comportamento foi observado no estudo realizado por Leonarski (2021) que afirma que a diminuição do pH foi causada pela fermentação seguido pela formação de ácidos orgânicos, tais como 3,3 no primeiro dia de fermentação do kombucha de chá verde que decresceu no próximos dois dias chegando a 2,8 e se mantendo constante entre os dia 12 a 15 que obteve-se um pH final de 2,5.

Foi observado que as amostras do kombucha possuem valores aproximados e decrescentes, iniciando com pH 4,05 em 3 dias de fermentação tendo por fim dos 12 dias de fermentação o pH mais ácido em 3,47. Outros estudos de kombuchas fermentadas já haviam mostrado resultados parecidos como Ayed, Abid e Hamdi (2017), que analisaram um kombucha produzida utilizando chá preto que mostraram 3,95 de pH inicial e em 12 dias de fermentação obteve-se pH 2,9. Além disso na IN 41 que estabelece o padrão de identidade e qualidade do kombucha deve ficar o pH de 2,5 a 4,2 onde mostra que o kombucha de resíduos de acerola está dentro dos padrões nacionais.

Tabela 3. Valores de pH ao longo dos dias de fermentação relacionado à amostra.

Dias	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média
D3	4,05	3,95	4,00	4,00
D6	3,87	3,68	3,85	3,8
D9	3,72	3,51	3,57	3,6
D12	3,40	3,34	3,47	3,4

Fonte: Elaborada pela autora (2024).

5.2 Acidez volátil

Schroeder (2018) traz que durante o processo de fermentação as leveduras e bactérias metabolizam a sacarose em ácido acético e ácido glucurônico. Essa acidez está diretamente relacionada com os dias fermentativos, quanto mais tempo passar mais ácido produzirá e, consequentemente, acidificar a bebida.

Inicialmente, foi feita uma titulação do kombucha com uma solução de hidróxido de sódio 0,1 M padronizada e fenolftaleína como indicador e foram utilizados 60 ml da solução básica, com esse valor foi calculado a acidez total. Depois um volume de kombucha foi colocado em um cadinho e este em banho maria para concentrar a amostra até a total secura, em seguida foi ressuspendida até 100 ml com água destilada e titulada com a mesma solução de NaOH, sendo utilizados 18 ml, com esse valor foi calculada a acidez fixa.

A acidez volátil foi obtida pela diferença entre acidez total e acidez fixa. Este último valor foi dividido pela graduação alcoólica e multiplicado por 100 para se obter a acidez volátil (Instituto Adolfo Lutz). Ao final, o valor obtido foi de 1.714,29 mmol/L de ácido acético, conforme os cálculos abaixo. Este valor é bem mais elevado do que o estabelecido pela IN 41 (Tabela 1), que deve ser de no mínimo 30 e máximo de 130 mEq de ácido acético, assim o produto obtido não atende a esse critério da legislação.

Cálculos para calcular acidez total:

$$Ácidos\ totais\ = \frac{n*M*f*PM}{(10*V)}$$

Nos quais tem-se:

n = volume gasto na titulação da solução de hidróxido de sódio, em mL

M = molaridade da solução de hidróxido de sódio

f = fator de correção da solução de hidróxido de sódio

PM = peso molecular do ácido acético (60g)

V = volume tomado da amostra, em mL

$$Ácidos\ totais\ = \frac{60*0{,}05*1*60}{(10*100)} = 0,18\ g/100ml\ de\ ácido\ acético$$

Cálculos para calcular acidez fixa:

$$Ácidos\ fixos\ = \frac{n*M*f*PM}{(10*V)}$$

$$Ácidos\ fixos\ = \frac{18*0{,}05*1*60}{(10*50)} = 0,108\ g/100ml\ de\ ácido\ acético$$

$$Ácidos\ voláteis\ =\ Ácidos\ totais\ -\ Ácidos\ fixos\ = 0,18\ -\ 0,108\ = 0,072$$

$$Acidez\ volátil\ = \frac{AV*100}{G} = \frac{0{,}072*100}{0{,}7} = 10,2857\ g/100\ mL\ de\ ácido\ acético$$

G = Graduação alcoólica

Transformando acidez volátil de g/100 mL em mmol/L (unidade usada na IN 41):

$$Acidez\ volátil\ = 10,2857\ *\ 10\ *\ 0,060\ =\ 1.741,29\ mmol/L\ de\ ácido\ acético$$

Outros trabalhos tiveram resultados diferentes como Silva (2024) relata a produção de kombucha com farinha de cascas de uva 20%, 30% pelo método de destilação e quantificação com a densidade relativa obteve-se 60,1 mEq/L em 10% de concentração, 132,1 mEq/L em 20% de concentração, 78,1 mEq/L em 30% de concentração.

Futuros trabalhos podem ser realizados no intuito de reduzir a formação de ácidos no kombucha de resíduos de acerola para se adequar a IN 41, sendo possível diminuir o número de dias da primeira fermentação ou a quantidade de açúcar, e diminuir a quantidade de suco de resíduo de acerola, caso este apresente uma acidez volátil muito elevada.

5.3 Graduação alcoólica

O kombucha passa pelo processo de fermentação em duas etapas, fazendo com que sejam consumidos, pela simbiótica, a sacarose. Inicialmente na fermentação, as leveduras são responsáveis pela hidrólise da sacarose em glicose e frutose, além da produção de etanol (Villarreal-Soto *et al*., 2018). Enquanto as leveduras convertem o açúcar em álcool e dióxido de carbono (Chakravorty et al., 2016; Dufresne; Farnworth, 2000).

Os dados obtidos foram gerados através da diferença entre o peso dos picnômetros vazios e do peso dos mesmos com um volume fixo de kombucha, em triplicata, obtendo-se uma média de 0,99889 g/cm^3 a 20°C/20°C (Tabela 4). Consultando a tabela de densidade relativa do Instituto Adolfo Lutz (Tabela 2), esse valor fica entre 0,7 (densidade de 0,99895) e 0,8% v/v a 20°C/20°C (densidade de 0,99880), sendo mais próximo de 0,7% v/v a 20°C/20°C de álcool no kombuca.

Tabela 4: Resultado da média, em triplicata, de graduação alcoólica em 20°C/ **(**g/cm^3**)**

Picnômetros	**Densidade relativa em 20°C (g/cm^3)**
Picnômetro 1	0,99861
Picnômetro 2	0,99971
Picnômetro 3	0,99835
Média	0,99889

Fonte: Autoria própria 2024.

As leveduras (*S. cerevisiae, B. bruxellensis* e *Kluyveromyces marxianus*) produzem etanol via glicólise e geralmente preferem glicose a frutose (Jayabalan *et al*., 2014; Leonarski, *et al*., 2021; Leonarski, Guimarães, Cesca, Poletto, 2023). Sendo então que obteve-se uma kombucha com 0,7% de álcool, considerada pela IN 41 um kombucha alcoólica (Tabela 1).

A literatura mostra kombuchas com resultados maiores graduação alcoólica, possivelmente devido a um maior tempo de fermentação. Duran, Cezarino, e Batistão (2022) utilizando o alcoômetro Gay Lussac (GL) com 100 mL da amostra de kombucha (à 20°C) que fermentou de 7 a 14 dias um kombucha de suco in natura de uvas verdes para graduação alcoólica foi 4°GL que é equivalente a 4% v/v de álcool sendo considerada um kombucha alcoólica pela IN 41.

Silva (2021) apresentou em 10 dias de processo fermentativo um kombucha saborizado com frutas amoras e framboesa in natura de 4,4% de teor alcoólico sendo que a fermentação ficou sob temperatura de 26ºC, controlada por ar condicionado tipo split (Samsung, Digital Inverter). Leonarski *et al* (2020) produziu um kombucha de resíduos de acerola e após 12 dias, atingiu 4,57 g/L de ácido acético e 8,95 g/L de etanol que estima-se 8,95% de v/v de teor alcoólico, o que estaria fora do padrão de graduação alcoólica pela IN 41.

5.4 Compostos fenólicos totais

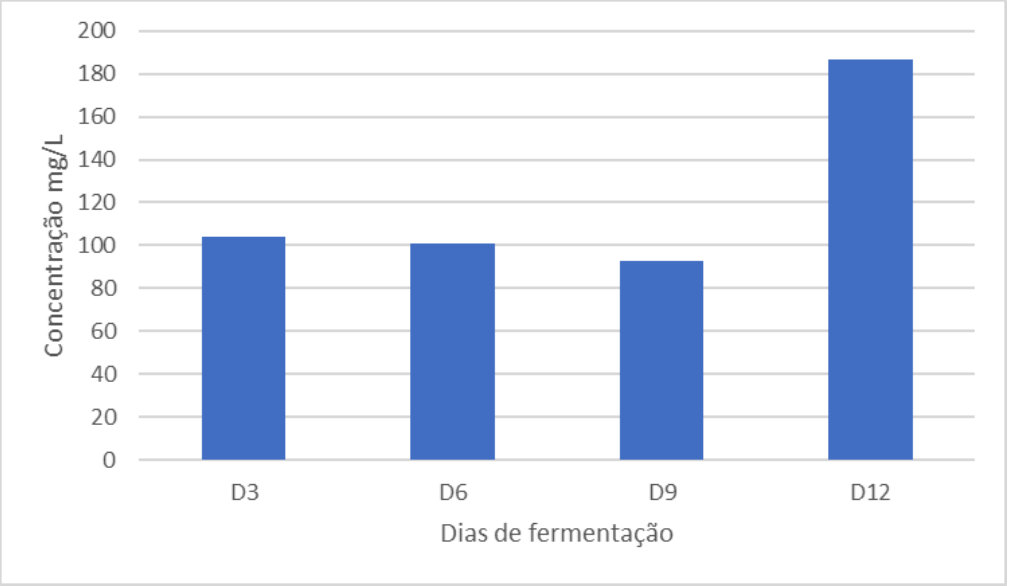
A composição química do chá verde inclui diversas classes de compostos fenólicos (CFT) como os flavonoides($C_{16}H_{14}O_3$), entre eles os principais presentes são os monômeros de catequinas, além de flavonoides e ácidos fenólicos.(Paludo, 2017). São antioxidantes de alto nível devido à sua capacidade para eliminar as espécies de radicais livres e ativos de oxigênio. (Jayabalan et al., 2008).

As concentrações de CFT no D3 foi 104 ± 0,0033 mg de equivalente de ácido gálico/L, D6 100 ±0,00125 mg eq.AG/L, D9 92 ± 0,00170 mg eq.AG/L e D12 186 ± 0,0198 mg eq.AG/L (Figura 16) ocorrendo entre D3 ao D9 um decréscimo de CFT, que diverge da literatura onde mostram que CFT cresceram ao longo dos dias. Os resultados de Schroeder, J.(2019) para a kombucha preparada à base de chá verde a concentração de CFT passou de 198 para 320 mg/L ao final da fermentação, após

15 dias de fermentação. Já Paludo (2017), analisou o kombucha somente após 7 dias de fermentação o chá de erva verde artesanal apresentou resultados de 938,5 mg/L, não estudando a evolução entre o primeiro dia e o último.

Este decréscimo pode ter se originado pela entrada de oxigênio no sistema causando oxidação dos polifenois, o que levou a sua redução conforme sugerido por Schroeder, J.(2019). Outro fator que pode ser relevante é que os compostos fenólicos complexos são degradados a moléculas menores em ambiente ácido ou quando são liberadas enzimas por bactérias e leveduras (Watawana *et al* 2015). O pH obtido no kombucha teve valor mínimo de 3,4 (tabela 3) mas os valores da literatura o pH atinge valores mais baixos tais como 2,3, assim é possível que o kombucha de resíduos de acerola não tenha atingido um pH baixo o suficiente para favorecer a degradação dos polifenois.

Figura 16: Concentração de CFT relacionados aos dias de fermentação.



Fonte: Autoria própria(2024).

Foi observado um aumento significativo no D12, sendo o D12 três dias após o processo de saborização do kombucha, mostrando assim que o suco de resíduos de acerola junto o kombucha possui, por fim, mais propriedades antioxidantes de compostos fenólicos apresentando 186,72 mg/L, entende-se que o kombucha de resíduos de acerola mantém 86 mg/L a mais que nos chá verde fermentados e analisados durante os dia 3 a dia 9.

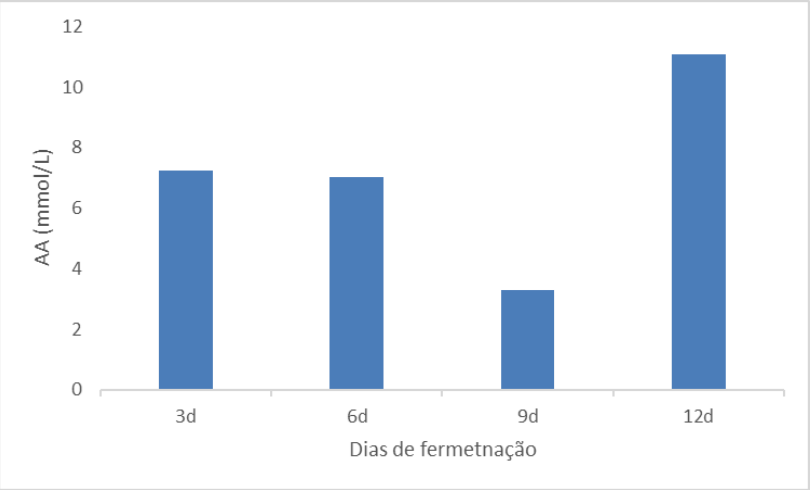
5.5 Atividade antioxidante pelo método ABTS

A atividade antioxidante foi medida ao longo dos dias pelo método de sequestro do radical ABTS e expressos em mmol de equivalentes de Trolox/L. Os valores obtidos entre D3 e D6 diminuíram levemente, de 7,23 mmol/L para 7,03 mmol/L, em D9 para 3,30 mmol/L, e em D12 para 11,07 mmol/L, conforme mostrados na figura 17.

Outros trabalhos também apresentaram redução da atividade antioxidante ao longo dos dias, com valores máximos geralmente no terceiro dia. Zhou *et al* (2022) elaboraram kombuchas de chá verde e chá preto com e sem resíduos dos chás (com resíduo do chá foi a bebida que não foi filtrada, já a bebida sem o resíduo foi filtrada), obtendo valores que de forma geral aumentaram no início de depois caíram e os chás com resíduos apresentaram maiores valores de atividade antioxidante. Para o chá verde sem o resíduo os valores ficaram constantes ao longo dos dias em aproximadamente 6 mmol/L.

Os autores ressaltam que diferenças na composição dos chás e diferentes microrganismos da cultura *stater* do kombucha podem gerar diferenças de resultados na atividade antioxidante. Saimaiti *et al* (2022) elaboraram kombuchas de chá preto com e sem resíduos de vinha e com e sem resíduos de chá adoçado, encontrando os maiores valores no terceiro dia seguido de queda na atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical ABTS, com os chás com resíduos obtendo valores bem mais elevados do que os chás sem resíduos. O chá adocicado sem resíduo permaneceu com valores pouco acima de 4 mmol de equivalente Trolox/L ao longo da fermentação com valor máximo no terceiro dia.

Figura 17: Atividade antioxidante pelo sequestro do radical ABTS e dias de fermentação.



Fonte: Elaborada pela autora (2024).

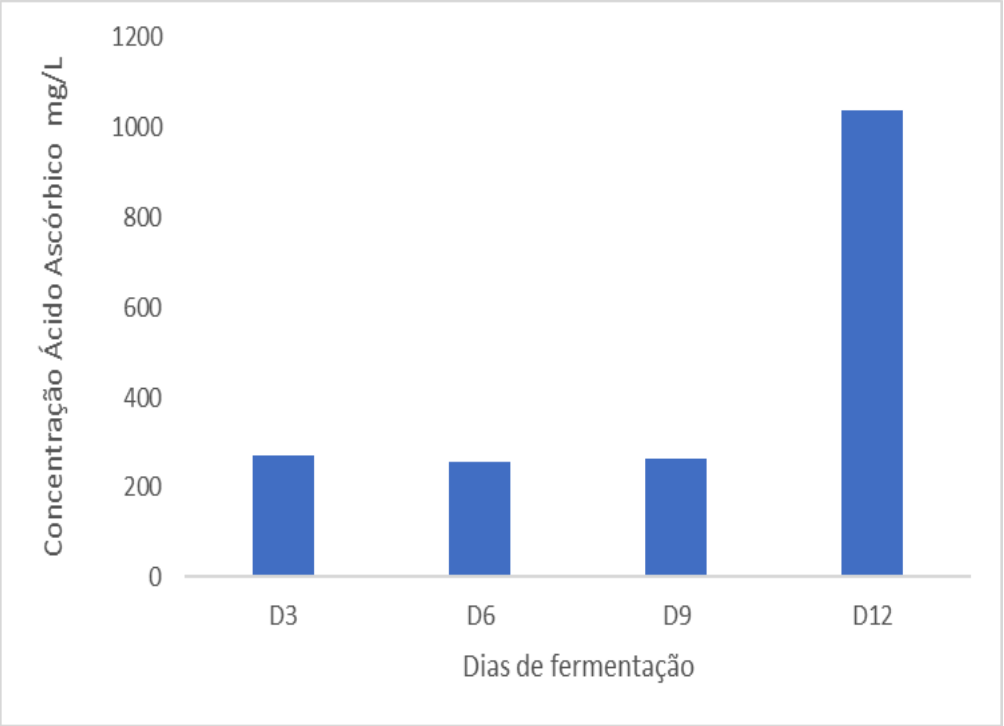
Comparado com os valores de compostos fenólicos totais (figura 16), CFT e atividade antioxidante ficaram praticamente estáveis em D3 e D6, já em D9 CFT reduziram aproximadamente 10% mas a atividade antioxidante reduziu em mais de 50%, então conclui-se que deve haver outro composto que não seja composto fenólico que esteja influenciando fortemente na atividade antioxidante e foi fortemente afetado entre D6 e D9. Na literatura existe a tendência de baixar a atividade antioxidante ao longo dos dias de fermentação a partir do terceiro dia, podendo estar associada a oxidação de compostos fenólicos, mas nossos resultados divergem da literatura. De forma geral, a atividade antioxidante em D3 e D6 foram semelhantes as obtidas por Zhou *et al* (2022) e Saimaiti *et al* (2022) com 6 e 4 mmol/L de equivalente Trolox, mas divergem em D9 devido a forte queda na atividade antioxidante neste dia. Em D12 a atividade antioxidante atinge um valor muito maior devido ao acréscimo de suco de resíduo de acerola.

4.6 Vitamina C (Ácido-ascórbico)

Entre D3 e D9 a concentração de ácido ascórbico caiu levemente, de 272,17 ± 3,35 mg de ácido ascórbico/L para 258,12 ± 6,58 mg AA/L, já em D12 a concentração foi de 1.037,25 ± 60,14 mg AA/L, devido ao acréscimo do suco de resíduo de acerola. É esperado que a concentração de vitamina C caia ao longo dos dias devido ao contato com o oxigênio e consequente oxidação da vitamina C. Leonarski *et al* (2021) relatou que o ácido ascórbico diminuiu em 25% em 15 dias,

devido à presença de oxigênio e temperatura de fermentação (30°C). acrescentar uma segunda referência com vitamina C. O resultado obtido neste trabalho foi uma queda de 5% entre os dias 3 e 9, possivelmente pelo menor tempo de fermentação e incubação à temperatura ambiente, logo após .

Figura 18: Concentração de ácido ascórbico e dias de fermentação.

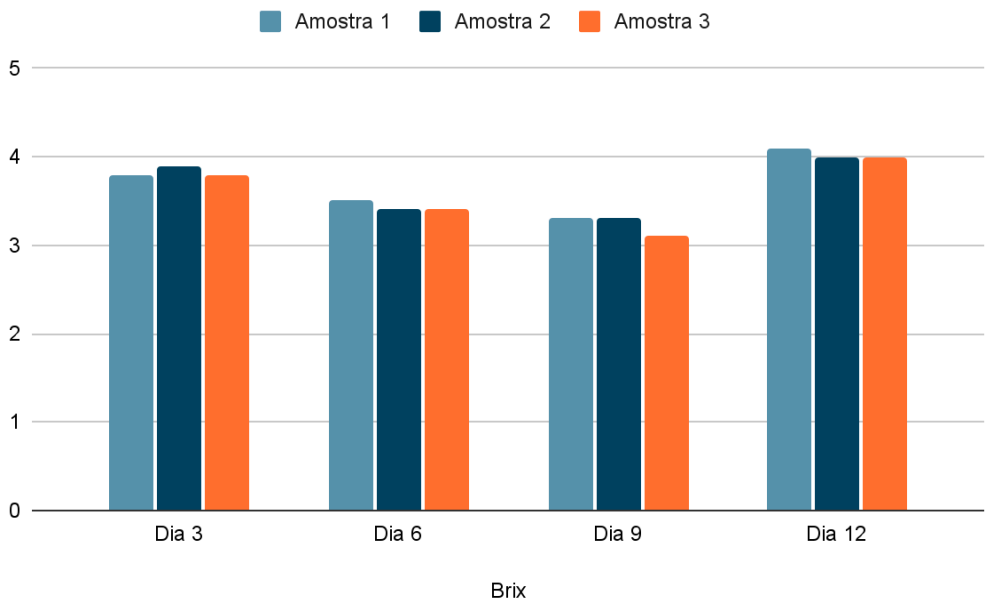


Fonte: Elaborada pela autora (2024).

5.7 Determinação da concentração de açúcar

A concentração de açúcar iniciou-se com 3,8 °Brix em D3 e decresceu até o D9 chegando a 3,2 °Brix (Figura 19). É esperado que os açúcares diminuam ao longo dos dias de fermentação, pois são metabolizados pela levedura e bactérias em outros compostos, tais como etanol, dióxido de carbono, ácido glicurônico e a ácido acético (Chakravorty et al., 2016). Já em D12 houve um acréscimo para 4,00 °Brix, devido ao acréscimo do suco de resíduo de acerola adoçado. Lima *et al* (2019) obtiveram uma redução de 60% dos carboidratos no mostro em 6 dias, sugerindo que o scoby estava viável e sadio. No Kombucha de suco de resíduo de acerola obteve-se uma redução de 16% entre os dias 3 e 9, possivelmente devido ao início da fermentação com menor nível de açúcares.

Figura 19: Gráfico de representação do °Brix.



Fonte: Elaborada pela autora (2024).

6 CONCLUSÃO/ CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento de um kombucha a partir de resíduos de acerola tem o potencial de agregar valor a um resíduo que seria descartado, com alto teor de vitamina C, probióticos e elevada atividade antioxidante com a possibilidade de substituição de refrigerantes e outras bebidas açucaradas e geração de empregos. Neste intuito, o kombucha deve ser caracterizado como uma bebida não alcoólica, entretanto durante 12 dias de fermentação obteve-se uma bebida de baixo teor alcoólico que para seu consumo, deve ser especificado em rótulo e seguir os padrões de identidade de um kombucha alcoólica pela Instrução Normativa N° 41 (acima de 0,05% de álcool v/v), não alcançando o resultado almejado de elaborar uma bebida considerada sem álcool pela legislação. A acidez volátil ficou fora dos padrões exigidos pela legislação, no mínimo 30 e 130 mEq/L sendo o valor obtido de 1.714 mEq/L. Os demais padrões da legislação foram atingidos. Sugere-se em futuros trabalhos, para adequar a produção de Kombucha de resíduos da acerola com o intuito de diminuir o teor de álcool e ácidos voláteis, diminuir o tempo e quantidade de açúcar da primeira fermentação, verificar a quantidade de ácidos voláteis no suco do resíduo de acerola antes de iniciar a segunda fermentação e diminuir a mistura de suco ao kombucha caso este tenha um teor elevado de ácidos voláteis.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE KOMBUCHA. **Padronização de identidade e qualidade da Kombucha.** São Paulo,2019. Disponível em: https://abkom.org.br/padronizacao-de-identidade-e-qualidade-da-kombucha/ Acesso em:13 mar. 2023

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE REFRIGERANTES E BEBIDAS NÃO ALCOÓLICAS. **Britvic brasil.** Brasília**,** 1950. Disponível em: <https://abir.org.br/associado/britvic/. Acesso em: 06 mar. 2023.

AYED, L.; ABID, S. B.; HAMDI, M. Development of a beverage from red grape juice fermented with the Kombucha consortium. **Annals Microbiol,** v. 67, p. 111-121, 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s13213-016-1242-2. Acesso em: 01 abr.2023

BALENTINE DA, WISEMAN SA, BOUWENS LC. The chemistry of tea flavonoids. **Crit Rev Food Sci Nutr.** v. 37,n.8 , 693–704. Englewood Cliffs, 1997. Disponívelem:https://www.tandfonline.com/doi/citedby/10.1080/10408399709527797?scroll=top&needAccess=true. Acesso em: 01 Abr. 2023

BRASIL, Lei N° 8.918 de 14 de julho de 1994. Dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas, autoriza a criação da Comissão Intersetorial de Bebidas e dá outras providências**. República Federativa do Brasil,** Casa Civil, Brasília, DF, 1994. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l8918.htm#:~:text=LEI%20N%C2%BA%208.918%2C%20DE%2014%20DE%20JULHO%20DE%201994.&text=Disp%C3%B5e%20sobre%20a%20padroniza%C3%A7%C3%A3o%2C%20a,Bebidas%20e%20d%C3%A1%20outras%20provid%C3%AAncias. Acesso em: 08/04/2023.

BRASIL, Ministério do meio ambiente. **Gestão de resíduos orgânicos.** Brasília,2017. Disponível em: https://antigo.mma.gov.br/cidades-sustentaveis/residuos-solidos/gest%C3%A3o-de-res%C3%ADduos-org%C3%A2nicos.html. Acesso em:08 abr 2023.

BRASIL, Norma regulamentadora n° 25 de 1978. **Estabelece requisitos de segurança e saúde no trabalho para o gerenciamento de resíduos industriais.** Brasília, 1978. Disponível em:https://www.gov.br/trabalho-e-emprego/pt-br/acesso-a-informacao/participacao-social/conselhos-e-orgaos-colegiados/comissao-tripartite-partitaria-permanente/normas-regulamentadora/normas-regulamentadoras-vigentes/norma-regulamentadora-no-25-nr-25 Acesso em: 08 Abr 2023.

BRASIL, Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. Norma regulamentadora n°41 de 17 de setembro de 2019 Estabelecer o Padrão de Identidade e Qualidade da Kombucha. **Diário Oficial da União.** Brasília, DF, 2019. Seção:1, p.13. Disponível em: https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=18/09/2019&jornal=515&pagina=13&totalArquivos=76. Acesso em: 18 Set 2019.

CHAKRAVORTY S, BHATTACHARYA S, CHATZINOTAS A, CHAKRABORTY W, BHATTACHARYA D, GACHHUI R. Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. **Int J Food Microbiol.** Índia, v. 220, p.63-72. 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro. Acesso em: 01 Abr 2023

COSTA, J.R.; HOMEM-JUNIOR, A.C. Desperdícios de hortifrutícolas e utilização da compostagem como forma de reciclar os resíduos. **In: III SIMTEC – Simpósio de Tecnologia da FATEC Taquaritinga**. 9, 2015,. São Paulo. p.1-9 Disponível em: https://simtec.fatectq.edu.br/index.php/simtec/article/view/226/169 Acesso em: 10 mar 2023.

CRISTINA. **Chorume: vazamento, tratamento e complicações ecológicas.** São Paulo, 2020. Acesso em: 14/04/2023. Disponível em:https://ambscience.com/chorume-vazamento-tratamento-e-complicacoes-ecologicas/.

DUFRESNE, C.; FARNWORTH, E. Tea, Kombucha, and health: A review. **Food Research International,** Canada v. 33, n. 6, p. 409-421, jul. 2000. Disponível em:https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996900000673 Acesso em: 12 jun 2023

DURAN, P.; CEZARINO, SUZANA MEIRE; BATISTÃO, P. F. Elaboração do Kombucha sabor uva na Etec Dep. Paulo Ornellas Carvalho de Barros. Sp.gov.br, 2022.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos.** 4.ed. São Paulo, 2008.

JAYABALAN, R. et al. A Review on Kombucha Tea-Microbiology, Composition, Fermentation, Beneficial Effects, Toxicity, and Tea Fungus. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, n. 4, p. 538–550, 21 jun. 2014. Disponivel em: https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1541-4337.12073 Acesso em: 20 jun 2022

LEONARSKI E, CESCA K,ZANELLA E, BORIS U. STAMBUK, OLIVEIRA D, POLETTO P, Production of kombucha-like beverage and bacterial cellulose by acerola by product as raw material, **LWT**, V. 135, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110075. Acesso em: 20 Ago 2023

LIMA, A. R. N. et al. Caracterização físico-química e microbiológica de biscoitos preparados com farinha de frutos de frutas. **Pesquisa, sociedade e desenvolvimento,** [s.l.] v. 8, n. 11, p. 198111452, 2019. Disponível em: https://www.redalyc.org/journal/5606/560662202019/560662202019.pdf Acesso em: 10 Set 2023

MAIA, Yara Lúcia Marques, CORREIA, Maria Luísa De Sousa, NETO, José Vicente Da Silva, CASTRO, Bruna Neves. Kombucha: características e aspectos biológicos. **Revista Referências em Saúde da Faculdade Estácio de Sá de Goiás**-RRS-FESGO. Vol.03, n.1, p. 114-123, 2020, Goiânia, Goiás. Disponível em:

https://estacio.periodicoscientificos.com.br/index.php/rrsfesgo/article/view/208/199 Acesso em: 04/04/2023

MAY, A. et al. Kombucha: a novel model system for cooperation and conflict in a complex multi-species microbial ecosystem. **PeerJ,** v. 7, p. e7565, 3 set. 2019. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31534844/ Acesso em: 15 Mai 2023

MESQUITA, P.C.; VIGOA, Y.G. La acerola. Fruta marginada de Americacon alto contenido de ácido ascórbico. **Alimentaria,** Madrid, v.37, n.309, p.113-126, 2000.

PALUDO, N. Desenvolvimento e caracterização de kombucha obtida a partir de chá verde e extrato de erva-mate : processo artesanal e escala laboratorial. **lume.ufrgs.**br, 2017. Disponível em: https://lume.ufrgs.br/handle/10183/174899. Acesso em: 06 Mai 2024

REQUEST REJECTED. SENAI da Barra do Ceará ministra curso IN COMPANY para empresa EBBA. **Federação das indústrias do estado do ceará.** Disponível em: https://www1.sfiec.org.br/fiec-noticias/search/114305/senai-da-barra-do-ceara-ministra-curso-in-company-para-empresa-ebb . Acesso em: 30 set. 2024.

SELIMOVIC, A.; SALKIC, M.; SELIMOVIC, A. 2011. Direct Spectrophotometric Determination of L-ascorbic acid in Pharmaceutical Preparations using Sodium Oxalate as Stabilizer. **International Journal of Basic & Applied Sciences IJBAS-IJENS,** v. 11, n. 2, p. 106-109. Disponível em: https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=ed8eb3321141baff1e8eced8beffc26b433aa965 Acesso em: 15 Mai 2024

SILVA, T. R. Desenvolvimento de kombucha obtida a partir de chá verde saborizado com polpa de maracujá: processo artesanal e avaliação sensorial. **releia.ifsertao-pe.edu.br**, 2021. Disponível em: https://releia.ifsertao-pe.edu.br/jspui/handle/123456789/753 Acesso em: 19 Jun 2024

SANTOS, I.; SOBRINHO, B. **UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA CENTRO DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO SOCIOAMBIENTAL PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS PROPRIEDADES NUTRICIONAIS E FUNCIONAIS DE RESÍDUOS DE ABACAXI, ACEROLA E CAJÁ ORIUNDOS DA INDÚSTRIA PRODUTORA DE POLPAS.** [s.l: s.n.]. Disponível em: <http://www2.uesb.br/ppg/ppgca/wp-content/uploads/2017/11/Disserta%C3%A7%C3%A3o-FINAL-IVAN-01-04-14.pdf . Acesso em: 18/05/2023.

SILVA, M. E. S. H. A. DA. Desenvolvimento de uma kombucha alcoólica: protótipo Industrial. **lume.ufrgs.br,** 2021. Disponível em:https://lume.ufrgs.br/handle/10183/239316. Acesso em: 30/08/2024

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231–1237, mai 1999. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10381194/ Acesso em: 22 Mar 2024

SCHROEDER, J. Kombucha fermentada a partir de resíduo de acerola. **Ufsc.br,** 2019. Disponível em: https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/199730 Acesso em:09/03/2023

CARLA et al. Formulação e avaliação sensorial hedônica de iogurte com polpa de acerola. **Revista Eletrônica Científica Inovação e Tecnologia,** v. 3, n. 5, p. 10–10, 14 ago. 2012. Disponível em: https://periodicos.utfpr.edu.br/recit/article/view/4117 Acesso em: 20 Mar 2022

VILLARREAL-SOTO, S. A. et al. Understanding Kombucha Tea Fermentation: A Review. **Journal of Food Science,** v. 83, n. 3, p. 580–588, 6 mar. 2018. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29508944/ Acesso em; 21 Mai 2022

YANAGIMOTO, K. et al. Antioxidative Activities of Volatile Extracts from Green Tea, Oolong Tea, and Black Tea. **Journal of Agricultural and Food Chemistry,** v. 51, n. 25, p. 7396–7401, dez. 2003. Disponível em:https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14640590/ Acesso em: 25 Jun 2022

WATAWANA, M. I. et al. Health, Wellness, and Safety Aspects of the Consumption of Kombucha. **Journal of Chemistry,** v. 2.015, p. 1-11, 2015. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1155/2015/591869 Acesso em: 22 Jul 2023

ZHOU, T. et al. **FEDformer: Frequency Enhanced Decomposed Transformer for Long-term Series Forecasting.** Disponível em: <https://proceedings.mlr.press/v162/zhou22g.html>. Acesso em: 22 Out 2023